

# Analiza zawartości kofeiny w suplementach diety wspomagających odchudzanie

Karolina Wołankiewicz<sup>1</sup>, Irma Podolak<sup>1</sup>, Paweł Paśko<sup>2</sup>, Agnieszka Galanty<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum w Krakowie

<sup>2</sup> Zakład Bromatologii, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum w Krakowie

Adres do korespondencji: Agnieszka Galanty, Katedra Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków, e-mail: agnieszka.galanty@uj.edu.pl

## Wstęp

Rynek suplementów diety w Polsce jest szacowany na 4,35 mld zł, co w praktyce oznacza sprzedaż ponad 200 mln opakowań suplementów diety rocznie. Eksperci spodziewają się, że w 2020 r. przekroczy on 5 mld zł [1].

W świetle obowiązujących przepisów prawa suplementy diety zaliczane są do środków spożywczych. Są one przeznaczone dla osób zdrowych i nie mogą mieć żadnego działania leczniczego, co jasno wynika z ich definicji zawartej w Ustawie o bezpieczeństwie żywności i żywienia z 2006 r. [2]. Podobieństwo postaci suplementów diety do produktów leczniczych, ich bliskie sąsiedztwo na aptecznych półkach, a także wszechobecna i agresywna reklama w mediach potęgują u pacjentów mylne przekonanie o braku różnic między tymi dwoma produktami. Różnice te są jednak bardzo znaczące, gdyż suplementy diety, jak zostało wcześniej wspomniane, podlegają regulacjom prawa żywnościowego, a produkty lecznicze kontroluje prawo farmaceutyczne [3]. Z tego powodu leki, zanim zostaną dopuszczone do obrotu, muszą przejść wiele etapów restrykcyjnych badań i kontroli, w przeciwieństwie do suplementów diety, co może budzić wątpliwości co do jakości i faktycznego składu tych ostatnich. Obecność kofeiny w preparatach wspomagających odchudzanie wynika z jej aktywności farmakologicznej, tj. pobudzającego wpływu na ośrodkowy układ nerwowy i na lipolizę oraz charakterystycznego dla metyloksantyn działania diuretycznego [4, 5]. Kofeina nie jest pozbawiona działań niepożądanych, które mogą wystąpić przy przewlekłym jej stosowaniu, np. nadmierne pobudzenie psychoruchowe, gonitwa myśli, niepokój, bezsenność, częste oddawanie moczu, podrażnienie przewodu

**Analysis of caffeine content in weight-loss dietary supplements** · Dietary supplements are intended to enrich daily diet. Dietary supplements containing ingredients of plant origin are particularly often chosen because they are perceived as natural and safe. In reality, however, their safety and quality raise many objections.

The aim of the study was the analysis of the caffeine content in weight-loss dietary supplements, which are widespread on the Polish market. Five dietary supplements and one medicinal product were included in the study.

Ultrasound-assisted extraction was used in the work. Samples of the analyzed formulations were extracted with water. The obtained extracts were subjected to quantitative analysis using high performance liquid chromatography HPLC.

In most cases, the determined caffeine content was different from the value declared by the manufacturer. In three cases this content was lower and in one preparation higher in relation to the manufacturer's declaration. These differences were statistically significant.

**Keywords:** dietary supplements, caffeine, weight-loss.

© Farm Pol, 2019, 75(2): 53–56

pokarmowego. W przypadku zatrucia ostrego mogą wystąpić: światłowstręt, bóle głowy, lęk, nudności, psychozy, napady drgawek, tachykardia, hipokaliemia, hiperglikemia, kwasica metaboliczna. [6, 7]. Ze względu na metabolizm poprzez cytochrom CYP1A2 kofeina może wchodzić w interakcje z innymi substancjami metabolizowanymi przez ten cytochrom, tj. disulfiramem, flukonazolem, fluwoksaminą czy meksyletyną (zmniejszenie eliminacji kofeiny), a także epinefryną, albutamolem i kłozapiną (zmniejszenie eliminacji tych leków) [6, 8].

Celem pracy była analiza zawartości kofeiny w wybranych suplementach diety wspomagających odchudzanie, powszechnie dostępnych na

polskim rynku. Praca jest kontynuacją badań nad jakością suplementów diety prowadzonych od kilku lat w Katedrze Farmakognozji UJ CM [9].

## Material i metody

Materiał do badań stanowiło pięć suplementów diety i jeden produkt leczniczy (tabela 1). Wybrane suplementy diety zawierały deklarację zawartości kofeiny w składzie. Produkt leczniczy zawierał kwas acetylosalicylowy i kofeinę jako substancje czynne. Suplementy diety zostały zakupione w aptece internetowej, a lek zakupiono w jednej z krakowskich aptek.

Aby ustalić średnią masę jednej tabletki lub kapsułki przeprowadzono badanie jednolitości masy preparatów jednodawkowych (zgodne z normami Farmakopei Polskiej XI) [10]. W tym celu zważono na wadze analitycznej 20 losowo wybranych tabletek każdego preparatu. Następnie obliczono średnią masę i odchylenie od średniej masy. W przypadku suplementów diety występujących w postaci kapsułek na początku zważono całą kapsułkę, a następnie, po jej otwarciu i wysypaniu zawartości, samą otoczkę. Obliczono masę zawartości kapsułki, średnią i odchylenie standardowe.

Następnie w moździerzu roztarto każdorazowo 4 tabletki lub zawartość 4 kapsułek. Naważkę równoważną średniej masie tabletki/kapsułki umieszczono w kolbie stożkowej, dodano odpowiednią ilość wody destylowanej i umieszczono w łaźni do

ekstrakcji ultradźwiękowej. Ekstrakcję prowadzono przez 5 minut w temperaturze pokojowej. Warunki ekstrakcji zostały uprzednio zoptymalizowane empirycznie (dane u autorów). Uzyskane próbki przenoszono ilościowo do kolb miarowych o pojemności 50 ml i uzupełniono wodą destylowaną. Ekstrakcję przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdego preparatu. Badane wyciągi pobrano strzykawką i przesączono przez sączki membranowe Titan 2 HPLC filter – Nylon Membrane o średnicy porów 0,45 µm bezpośrednio do fiolek. Analizę ilościową kofeiny w badanych preparatach przeprowadzono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej przy użyciu chromatografu cieczowego Dionex z detektorem PDA100 UV-VIS, w warunkach opartych o dane literaturowe [11]. Fazę stacjonarną stanowiła kolumna Hypersil Gold C-18 (5 µm, 250 × 4,6 mm: Thermo EC) oraz prekolumna Hypersil Gold C-18 (5 µm, 10 × 4 mm: Thermo EC), a fazę ruchomą solvent A – woda, solvent B – acetonitryl, A:B 90:10z przepływem 1 ml/min. Czas analizy wynosił 20 min. Chromatogramy rejestrowano przy następujących długościach fali: 274 nm i 280 nm.

Krzywa wzorcowa dla kofeiny została sporządzona w zakresie stężeń od 0,0625 mg/ml do 1,0 mg/ml.

Wyniki opracowano przy zastosowaniu programów Microsoft Excel i Statistica v.13 (z zastosowaniem testu t-Studenta dla pojedynczej próby).

## Wyniki

Wyniki badania suplementów diety i produktu leczniczego pod kątem jednolitości masy przedstawiono w tabeli 2.

Oznaczone w toku analizy zawartości kofeiny w badanych suplementach diety i produkcie leczniczym przedstawiono w tabeli 3. Dodatkowo wzięto pod uwagę istotność statystyczną różnic pomiędzy zawartością oznaczoną a deklarowaną.

## Dyskusja

Suplementy diety z roku na rok cieszą się coraz większą popularnością wśród pacjentów, dodatkowo liczba suplementów stale rośnie – w rejestrze prowadzonym przez Główny Inspektorat Sanitarny można odnaleźć 367 powiadomień o pierwszym wprowadzeniu preparatów z kofeiną proponowanych jako suplement diety w 2017 r. i 275 powiadomień w 2018 r. (stan na 2 listopada 2018 r.) [12]. Suplementy diety wspomagające odchudzanie wypadają wyjątkowo niekorzystnie na tle innych środków. Według raportu Centrum Badań Opinii Społecznej z 2016 r. jako mało skuteczne lub nieskuteczne ocenione zostały preparaty

**Tabela 1.** Charakterystyka suplementów diety zawierających kofeinę.

**Table 1.** Characteristics of dietary supplements containing caffeine.

Nr suplementu diety*	Zawartość kofeiny w jednej tabletkie/kapsułce	Postać suplementu diety
K1	121,3 mg	tabletki powlekane
K2	60 mg	kapsułki
K3	104 mg	kapsułki
K4	11 mg	tabletki
K5	45 mg	kapsułki
Nr produktu leczniczego*	Zawartość kofeiny w jednej tabletkie	Postać produktu leczniczego
PL1	50 mg	tabletki

\* Preparaty oznaczono skrótami; pełne nazwy handlowe dostępne u autorów.

**Tabela 2.** Jednolitość masy suplementów diety i leku zawierających kofeinę.

**Table 2.** Weight uniformity of the tested supplements and the drug containing caffeine.

Nr preparatu	Średnia masa tbl./kaps. [mg]	Odchylenie standardowe
PL1	549,27	13,68
K1	703,86	6,78
K2	558,75	5,92
K3	408,44	2,4
K4	682,97	3,38
K5	685,37	14,22

**Tabela 3.** Oznaczona zawartość kofeiny w produkcie leczniczym i suplementach diety.

**Table 3.** Caffeine content in the tested drug and dietary supplements.

Nr preparatu	Deklarowana zawartość kofeiny [mg]	Oznaczona zawartość kofeiny <sup>1</sup> [mg]	% zawartości deklarowanej	Poziom istotności
PL1	50	49,65 ± 0,18	99,3	p>0,05
K1	121,3	93,33 ± 4,12	76,94	p<0,01
K2	60	40,37 ± 3,04	67,29	p<0,01
K3	104	98,03 ± 9,73	94,26	p>0,05
K4	11	11,36 ± 0,11	103,27	p<0,05
K5	45	26,17 ± 1,00	58,16	p<0,001

<sup>1</sup> Średnia arytmetyczna z trzech prób ± odchylenie standardowe pomiaru.

wspomagające rzucanie palenia oraz odchudzanie. Dodatkowo te ostatnie były często przyjmowane mimo braku wskazań czy też z przyzwyczajenia [13]. W dostępnej literaturze można znaleźć jedynie niewielką liczbę badań dotyczących analizy suplementów diety przeprowadzonych przez polskich badaczy [9, 14, 15], a badań dotyczących analizy suplementów diety wspomagających odchudzanie nie ma prawie wcale [16], stąd coraz większe zainteresowanie tym zagadnieniem niezależnych laboratoriów i ośrodków badawczych. Nieliczne dane literaturowe, jak również niekorzystne dla zdrowia działania niepożądane kofeiny (m.in. tachykardia, bezsenność, niepokój, nadmierne pobudzenie psychoruchowe, nudności) stanowiły zatem przesłankę do zweryfikowania jej zawartości w wybranych suplementach diety wspomagających odchudzanie.

W związku z podobieństwem postaci do leków, tj. występowaniem suplementów w formie tabletek i kapsulek, zdecydowano wykonać badanie jednolitości masy tabletek i kapsulek zgodnie z normami farmakopealnymi, w celu ustalenia ich średniej masy niezbędnej do dalszych badań. Dokonana analiza wykazała wysoką jednolitość masy w przypadku badanych suplementów diety. Każdy z preparatów spełniłby wymagania farmakopealne w odniesieniu do jednolitości masy, ponieważ w każdym z przypadków maksymalnie dwie lub mniej tabletek/kapsulek wykazały większą różnicę od średniej masy niż dopuszczalne farmakopealnie odchylenie i nigdy więcej niż dwukrotnie.

Drugi etap pracy obejmował ekstrakcję kofeiny ze stałych postaci badanych preparatów. Metodę ekstrakcji i odpowiedni rozpuszczalnik wybrano w oparciu o przeprowadzoną uprzednio optymalizację tego procesu, która wskazała na pięciominutową ekstrakcję wodą, z użyciem ultradźwięków, jako najbardziej efektywną (szczegółowe dane u autorów).

Głównym celem pracy było określenie zawartości kofeiny w próbkach za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC), według metody opisanej wcześniej [7]. Aby uwiarygodnić

metodę, jako punkt odniesienia przebadano również lek zawierający kofeinę w składzie. W przypadku produktu leczniczego oznaczona zawartość kofeiny była zgodna z wartością zadeklarowaną przez producenta, tj. 99,3% wartości deklarowanej (tabela 3). Zastosowana metoda oznaczenia była zatem wiarygodna. W toku analizy stwierdzono, iż oznaczona zawartość kofeiny w badanych suplementach diety wahała się w przedziale od 58,16% do 103,27% wartości deklarowanych (tabela 3). W przypadku jednego preparatu K3 (94,26%), można go uznać za spełniający normę zawartości kofeiny, która była zadeklarowana w składzie. Z kolei preparat K4 (103,27%) zawierał nieznacznie zwiększoną ilość kofeiny. W przypadku trzech pozostałych preparatów, tj. K1, K2 i K5, oznaczona zawartość kofeiny była znacznie zaniżona w stosunku do wartości deklarowanej przez producenta, odpowiednio o 23,06, 32,71 i 41,84%. Warto dodać, że w przypadku tych trzech preparatów różnica ta okazała się istotna statystycznie. Co ciekawe, były to preparaty pochodzące od tego samego producenta. Wartość oznaczona była niższa o 20 mg w przypadku każdego ze wskazanych trzech preparatów. Przypuszczalną przyczyną zaobserwowanych różnic był błąd urządzeń pomiarowych producenta.

Niniejsza praca, przedstawiająca wyniki badań zawartości kofeiny w suplementach diety wspomagających odchudzanie powszechnie dostępnych na polskim rynku, może być źródłem informacji dotyczących jakości tych preparatów oraz stanowić impuls do dalszych badań. Warto podkreślić, że jest to pierwsze tego typu badanie dotyczące preparatów kofeinowych w Polsce. W podobnych badaniach prowadzonych w ośrodkach zagranicznych (m.in. Stany Zjednoczone, Brazylia) zaobserwowano, że około 20–30% badanych suplementów zawierało mniej kofeiny w stosunku do ilości deklarowanej przez producenta, natomiast w około 15% badanych preparatów ta zawartość była wyższa od deklarowanej. Te ostatnie tłumaczone są przez badaczy obecnością dodatkowych surowców kofeinowych w składzie suplementów diety [17–19].

Ze względu na pojawianie się na polskim rynku kolejnych suplementów diety zawierających kofeinę planowane jest kontynuowanie i poszerzanie badań nad tymi preparatami.

Otrzymano: 2019.02.18 · Zaakceptowano: 2019.02.25

## Piśmiennictwo

1. <https://polskatimes.pl/juz-72-proc-polakow-uzywa-suplementow-diety-jednak-nie-wszystkie-produkty-sa-bezpieczne/ar/12434864> (dostęp: 30.10.2018)
2. Ustawa o bezpieczeństwie żywności i żywienia z dnia 25 sierpnia 2006 r. (Dz.U. Nr 171, poz. 1225), no. 171, 2006.
3. Krasnowska G., Sikora T.: Suplementy diety a bezpieczeństwo konsumenta. *Żywność. Nauk. Technol. Jakość.* 2011, 4(77): 5–23.
4. Cano-Marquina A., Tarin J.J., Cano A.: The impact of coffee on health. *Maturitas* 2013, 75(1): 7–21.
5. Mutschler E.: *Farmakologia i Toksykologia*. Wydawnictwo MedPharm Polska, Wydanie II polskie, Wrocław 2010, s. 196.
6. Seńczuk W.: *Toksykologia współczesna*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2005, s. 305.
7. Siwek R., Witkowska-Banaszczak E., Szumański M.: Kofeina w lekach i suplementach diety – znaczenie w lecznictwie. *Farm. Pol.* 2013, 69(9): 541–549.
8. Engebretsen K.M., Harris C.R.: Caffeine and related non prescription sympathomimetics. *Clin. Toxicol.* 2001: 310–315.
9. Siciarz A., Grabowska K., Podolak I., Galanty A.: Analiza zawartości wybranych metabolitów roślinnych w suplementach diety. *Farm. Pol.* 2017, 73(9): 521–526.
10. *Farmakopea Polska* Wydanie XI, Tom I, 2017, s. 437.
11. Tzanavaras P.D., Themelis D.G.: Development and validation of a high-throughput high-performance liquid chromatographic assay for the determination of caffeine in food samples using a monolithic column. *Anal. Chim. Acta*, Jan. 2007, 581(1): 89–94.
12. <https://rejestrzp.gis.gov.pl/index.php/szukaj/kofeina> (dostęp: 02.11.2018)
13. Centrum Badań Opinii Społecznej: Komunikat z badań CBOS nr 158/2016. *Leki dostępne bez recepty i suplementy diety*, 2016.
14. Łobozia M., Rajczykowski K., Wiechula D.: Ocena zawartości miedzi w witaminowo-mineralnych suplementach diety. *Farm. Pol.* 2016, 72(3): 157–162.
15. Kupcewicz B., Michalska E., Budzisz E.: Ocena zawartości witaminy C i rutyny w wybranych suplementach diety. *Bromat. Chem. Toksykol.* 2011, 44(1): 72–75.
16. Błoniarczyk J., Zaręba S.: Badanie zawartości niklu i chromu w suplementach diety wspomagających odchudzanie. *Roczn. PZH* 2011, 62(2): 153–158.
17. Cohen P.A., Attipoe S., Travis J., Stevens M., Deuster P.: Caffeine content of dietary supplements consumed on military bases. *JAMA Intern. Med.* 2013, 173(7): 592–594.
18. Viana C., Zemolin G.M., Müller L.S., Dal Molin T.R., Seiffert H., de Carvalho L.M.: Liquid chromatographic determination of caffeine and adrenergic stimulants in food supplements sold in Brazilian e-commerce for weight loss and physical fitness. *Food Additives&Contaminants: PART A*, 2016, 33(1): 1–9.
19. Andrews K.W., Schweitzer A., Zhao C., Holden J.M., Roseland J.M., Brandt M., Dwyer J.T., Picciano M.F., Saldanha L.G., Fisher K.D., Yetley E., Betz J.M., Douglass L.: The caffeine contents of dietary supplements commonly purchased in the US: analysis of 53 products with caffeine-containing ingredients. *Anal Bioanal Chem* 2017, 389: 231–239.